DOI:10.11931/guihaia.gxzw201909042

猴面包树的离体快繁条件筛选

刘扬[1]，李宏杨[1]，陈银华[2]，刘国民[2]，陈冠铭[1*]

（1. 三亚市南繁科学技术研究院，海南 三亚 572000；2. 海南大学，海口 570203）

摘要：以猴面包树（*Adansonia digitata*）种子作为外植体，研究筛选合适的种子预处理及消毒方法，然后经过启动培养后获得无菌外植体后在增殖培养基中进行丛生芽诱导，将丛生芽切成单株进行生根壮苗培养，最终建立猴面包树离体快繁技术体系。结果表明，75%酒精浸泡 3 min＋0.1%升汞消毒 15 min 消毒效果较佳，污染率为 21.7%，发芽效果较好；用 95%的浓硫酸预处理 12 h 接种到 WPM 启动培养基上萌发率为 46.0%；猴面包树种子经过预处理和消毒后接种到 WPM 启动培养基上遮光处理 48 h，发芽率可达 74.0%；将经过启动培养后的外植体切成 2~3 cm 带有一个节的幼嫩茎段接种在增殖培养基中进行丛生芽诱导，最终筛选出最佳增殖培养基为 WPM+2.0 mg·L^{-1} ZT+ 0.1 mg·L^{-1} + 0.2 mg·L^{-1} IBA，继代周期 60 d，增殖系数最高为 3.1 / 60 d；将丛生芽切成单株，接种到生根诱导培养基中，最终筛选出最佳生根培养基为 WPM+5.0 mg·L^{-1} IBA，生根诱导 60 d，生根率达 61.3%，平均根数为 1.9 条，平均根长 8.9 cm。将生根苗在荫棚炼苗后，移栽至混合基质（椰糠:菜园土:珍珠岩=1:1:1）中，成活率 60.0%。该文初步建立了猴面包树离体快繁技术体系，为猴面包树的快速繁殖和种质资源保存提供理论和技术支持。

关键词：猴面包树，种子萌发，离体培养，快速繁殖

中图分类号: Q813.1　　　　　　　　**文献标识码**: A

Screening for *in vitro* rapid propagation conditions of *Adansonia digitata*

LIU Yang[1], LI Hongyang[1], CHEN Yinghua [2], LIU Guoming[2], CHEN Guanming[1*]

（1. *Sanya Sci-Tech Academy of Hainan National Breeding and Multiplication*, Sanya 572000, Hainan, China; 2. *Hainan University*, Haikou 570203, China）

Abstract: The purpose of this paper was to establish the tissue culture regeneration system by using the seeds of *Adansonia digitata*. After treatment with a suitable pretreatment and seeds sterilizing method, the initial medium was inoculated to obtain a sterile material. After initiation culture, the multiple shoot were induced in the enrichment medium, and then cut into individual plants for rooting induction, and finally established a tissue culture and rapid propagation system.

The results showed that the optimal disinfection treatment combination of explants was 75% alcohol treatment for 3 min + 0.1% $HgCl_2$ treatment for 15 min, the contamination rate of explants was 21.7%. The germination rate was 46.0% after pretreatment with 95% concentrated sulfuric acid for 12 h. If the disinfection time is too long, the seeds are prone to black death, and *Adansonia digitata* plant development is not perfect. The baobab seeds were pretreated and

---

基金项目：海南自然科学基金面上项目（317205）[Supported by the Natural Science Foundation Project in Hainan（317205）]。

作者简介：刘扬（1991-），女，安徽安庆人，硕士，助理农艺师，主要从事种质资源收集与繁殖研究，(E-mail)18608965604@163.com。

*__通信作者__：陈冠铭，研究员，研究方向为园林园艺及农业经济学，(E-mail)C8361@163.com。

sterilized and inoculated onto WPM start-up medium for 48 h, and the germination rate was 74.0%. After the initial culture, axillary buds of the explants were cut into 2~3 cm with a section of young stems and inoculated into the enrichment medium and cultured for 60 d for multiple shoots induction. Finally, the best value-added medium was selected as WPM+2.0 mg·L^{-1} ZT+ 0.1 mg·L^{-1}+ 0.2 mg·L^{-1} IBA, and the subculture cycle was 60 d with the increment coefficient as high as 3.1. The best rooting medium was WPM + 5.0 mg·L^{-1} IBA, and rooting was induced for 60 d with a rooting rate of 61.3%, The average number of roots is 1.94 and the average root length is 8.88 cm. The *Adansonia digitata* with NAA and IAA is not easy to root, it is easy to produce foam roots, and it will affect the survival rate of transplanted fields. Adding the right amount of IBA can improve the foam root phenomenon and improve the transplant survival rate. After seedling adaptation, the tissue culture seedlings of *Adansonia digitata* were transplanted to mixed matrix with coconut: vegetable garden soil: perlite (volume ratio 1:1:1), and the survival rate reached above 60.0%. This paper preliminarily established the *in vitro* rapid propagation technology system of baobab. Provide theoretical and technical support for the rapid propagation of *Adansonia digitata* and the preservation of germplasm resources.

Key words: *Adansonia digitat*a , seed germination, in *vitro* culture, rapid propagation

猴面包树（*Adansonia digitata*）系木棉科（Bombacaceae）猴面包树属（*Adansonia*）大型乔木类植物，又叫波巴布树、猢狲木或酸瓠树，其主干短，分枝多，原产非洲热带干旱地区，英文名为 baobab（魏静等 2011）。猴面包树分布于南非、博茨瓦纳、坦桑尼亚和马达加斯加等位于热带或亚热带非洲的国家，喜温热，旱季能忍受温度 40℃ 以上的高温天气，也能忍耐 0℃ 的极端低温。猴面包树是非洲人生活中的一宝，具有较高的食用价值、药用价值和工业加工价值（Komane et al.，2016）。猴面包树作为园林美化树种在中国云南、广东、福建、海南、台湾、广西等地区有少量试种，其叶片中含有丰富的维生素和钙质，当地农民把将之当做一种木本蔬菜食用；其果肉富含糖分，可烤食、煮粥、酿酒和制作饮料；其根、嫩枝、果实、种子和花也都可以食用，口感甚佳，风味独特（Jitin et al.，2015）；其果实、叶片和树皮可入药，具有消炎、退热和治疗疟疾的功效（David et al.，2017; Louis & Peter, 2016）。另外，猴面包树树形奇特，具有较高的观赏价值，是非常值得开发利用的热带木本植物（刘扬等，2018）。随着人们生活水平的提高，以猴面包树为材料加工的健康食品逐渐进入中国市场，其丰富的营养和良好的保健功效越来越受到人们的重视（孙连立等，2018）。

猴面包树在国内的资源有限，严重制约了猴面包树的研究、开发和利用。而且，猴面包树的种壳坚硬厚实，种子发芽率低于 10%（刘扬等，2018），种苗繁育困难。随着猴面包树价值的不断开发，猴面包树种苗问题亟待解决。目前为止国内还未见有关猴面包树的植物组培快繁技术的研究报道，国外虽然不多，但都获得了一定的结果，为后续的研究提供了良好的科学参考，如 N’Doye et al.（2012）曾对猴面包树进行组织培养研究，发现以 MS 作为基础培养基添加 0.5 mg·L^{-1} BAP 适合增殖；之后，Rolli et al.（2014）提出添加适量的 IBA 能有效的提高猴面包树组培苗生根率，但增殖系数和生根率都有待有待优化。为了加快其推广进程，快速大量获得种苗，本研究以猴面包树当年生种子作为外植体，通过筛选种子预处理及消毒方法后接种在启动培养基上获得无菌材料，然后对其种苗快繁的全过程进行系统研究，进一步完善猴面包树组织快繁技术体系，从而为猴面包树在我国热带地区大面积推广种植奠定技术基础，并为猴面包树后续的深度研究提供便利。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为当年生猴面包树（*Adansonia digitata* ）种子，由海口市府城林木良种试验场引进，原产于非洲。采集时间为 2017 年 11 月。

1.2 培养基及培养条件

试验所用培养基为从青岛日水生物技术有限公司购买的 WPM 基本培养基，PH 5.2±0.1（25 ℃）；培养条件为光照时间 12 h d^{-1}（催芽试验遮光处理除外）、光照强度 1 600 lx、培养温度为(26 ±2) ℃。

1.3 试验方法

1.3.1 种子预处理

由于猴面包树种子在不做处理的情况下极难发芽，因此，采用酸蚀法对猴面包树种子进行预处理。2017 年进行酸蚀处理预实验，其处理方法为：用 95% 的浓硫酸处理猴面包树种子，处理时间分别为 0 min、5 min、10 min、30 min ，每个处理三次重复，每个重复 50 粒种子。将浓硫酸处理过的猴面包树种子洗干净酸蚀物质后，先参照下述外植体消毒方法对种子进行消毒处理，然后接种到 WPM 培养基上（未添加任何激素），置于培养温度（26±2）℃，光照强度 1600 lx、光照时间每天 12 h 的培养室中进行培养。30 d 后统计发芽率，统计标准为以胚根冲破种皮视为种子已萌发，长出真叶为成活。

基于预实验的数据不是很理想，2018 年 1 月对酸蚀处理方法进行改进，分别用 95% 的浓硫酸浸泡 6 h、12 h、24 h，每个处理三次重复，每个重复 50 粒种子，之后的消毒、接种和培养方法与前述相同。

1.3.2 外植体消毒

随机选取猴面包树种子用洗洁精冲洗 3 遍，每次摇晃 5 min，再用流水冲洗 30 min，然后于无菌操作台上用 75% 酒精浸泡来回摇晃，使消毒均匀，使用无菌水冲洗 3 次后加入 0.1% 升汞溶液用玻璃棒来回搅拌后倒掉消毒液，用无菌水清洗 5 次。试验设置 9 个处理（表 1），每个处理接种 30 瓶，重复 3 次，接种 14 d 后统计污染率（因猴面包树种子发芽率极低存活率不作为统计标准）。

1.3.3 遮光处理对猴面包树种子萌发的影响

将经过预处理的猴面包树种子消毒后接种到 WPM 空白培养基上，然后分别遮光培养 24 h、48 h、72 h 后，转移到光照强度为 2 000 lx 左右的培养室，每天光照 12 h 进行培养。以接种后不作任何遮光处理放在光照强度为 2 000 lx 左右的培养室每天光照 12 h 进行培养，作为对照，30 d 后统计发芽率和发芽势。每个处理 3 次重复，每个重复 30 粒种子。

1.3.4 细胞分裂素种类及浓度对猴面包树增殖的影响

以 WPM+IBA 0.2 mg L^{-1} 为基本培养基，分别加入 6-BA 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mg L^{-1} 或 ZT 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mg L^{-1}，以不加 6-BA 或 ZT 为对照。以种子萌发形成大小基本一致的猴面包树无菌幼苗为试验材料，切除叶片后，切成 2~3 cm 带有一个节的幼嫩茎段接种在上述培养基上，设计 13 个处理，每个处理 20 瓶，每瓶接种 3 株，3 次重复。接种后 60 d 统计增殖系数（植物组培增殖系数=增殖数 / 原个体数）、侧芽诱导率（侧芽诱导率=分化出芽的外植体数/未污染的外植体总数×100%）及生长状况。

1.3.5 生长素种类及浓度对猴面包树生根的影响

以大小、长度和生长状况相对一致的增殖获得的侧芽为材料，接种在 WPM 基础培养基上，添加不同浓度 IBA（1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mg L^{-1} ），NAA（2.0、3.0、4.0、5.0 mg L^{-1} ）或 IAA（2.0、3.0、4.0、5.0 mg L^{-1} ）的生根培养基中，对照组不添加任何生长素。每个处理 20 瓶，每瓶接种 3 棵，重复 3 次，60 d 后统计并计算生根率（生根率＝生根的组

培苗数/接种苗数×100％ ）、平均生根条数及平均根长。

1.3.6 炼苗及移栽

经过生根壮苗培养 60 d 左右，猴面包树组培苗长出 1~2 条根、根长 8 cm 以上时，将生根瓶苗移至育苗大棚放置，5 d 左右打开培养瓶的瓶盖再放置 2 d，取出生根苗洗净根部培养基，用 1000 倍多菌灵溶液浸泡 20 min 后栽种于经过 800 倍多菌灵溶液消毒过的基质（椰糠:菜园土:珍珠岩=1:1:1）中，进行日常水肥管理，60 d 后观察成活率及生长状况。

1.3.7 数据统计

用 Excel 和 SPSS 19.0 软件进行数据统计和分析。

2 实验结果

2.1 猴面包树种子消毒

方差分析与多重比较分析结果（表 1）表明，猴面包树种子污染率在处理 4、5、6、9 间无明显差异但污染率明显低于其他处理；但从种子发芽状况来看，处理 4、5 较好。综合污染率和发芽率，最佳处理方案为处理 4（75% 酒精 3 min＋0.1% 升汞溶 15 min），此时种子污染率较低（21.7%），发芽率较高（图 1：A，猴面包树种子发芽前会变透变红）。

2.2 预处理猴对面包树种子萌发的影响

由表 2 可知，不做任何预处理的猴面包树种子发芽率极低。预实验发现，用 95%浓硫酸浸泡 5 min、10 min、30 min 萌发率和发芽势与对照没有差异。后续实验加长浓硫酸的处理时间，结果发现，随着处理时间的增长，猴面包树种子的萌发率和发芽势逐渐增大，当用 95%的浓硫酸处理 24 h 时，种子萌发率和发芽势达到最大分别为 49.3% 和 31.3%；其次为处理 12 h 的种子，萌发率和发芽势分别为 46.0% 和 27.3%；通过方差分析发现，处理 12 h 和 24 h 的萌发率差异不显著，但明显优于其他处理。另外，用 95% 浓硫酸处理 12 h 时成活率为 97.7%、24 h 时成活率只有 55.3%，通过生长状况观察发现酸蚀 12 h 的种子发芽形成的植株健康，根系发达。而酸蚀处理时间过长（24 h）会出现明显酸害，导致种子种胚破损严重，发芽后多数畸形，不生根或者生根慢，植株发育不完全，后期大量种苗畸形死亡（图 1：A，左）。综上所述，95%浓硫酸处理 12 h 对猴面包树种子组培育苗效果最好。

2.3 遮光处理猴面包树种胚无菌萌发

由表 3 可知，遮光处理可以明显提高无菌条件下的猴面包树种子萌发率和发芽势，对成活率没有明显影响。通过方差分析可知，遮光处理 48 h 和 72 h 的萌发率和发芽势差异不显著但明显优于其他处理，其中，遮光 48 h 发芽率 74.0%、发芽势 42.7%，遮光 72 h 发芽率 72.0%、发芽势 44.0 %。从生长状况来看，遮光 48 h 发芽后子叶浓绿、肥厚，生长健壮（图 1：A ，中），根系发育完善；如果遮光时间过长，植株生长不均匀，部分叶片发黄，叶片蜷缩，恢复慢，影响后期发育和养分吸收，时间过久，植株矮小瘦弱。综上所述，对猴面包树种胚发芽时的最佳的遮光时间是 48 h。

2.4 细胞分裂素种类及浓度对猴面包树增殖的影响

由表 4 可知，以 WPM 为基本培养基，不添加任何细胞分裂素，没有侧芽发生，随着培养时间的增长茎杆上部变褐死亡。培养基中添加 1.0~ 6.0 mg·L^{-1} 的 ZT，随着 ZT 浓度的增加，增殖系数和侧芽诱导率呈现先增加后下降的趋势；当 ZT 浓度为为 2.0 mg·L^{-1} 时，增殖系数达到最大 3.1，侧芽诱导率为 98.3%，生长状况较佳（图 1：C）；当 ZT 浓度大于 2.0 mg·L^{-1} 时，增殖系数和侧芽诱导率都逐步下降，茎杆下基部产生大量愈伤，茎杆上部容易死亡，愈伤褐化严重。培养基添加 1.0 ~ 6.0 mg·L^{-1} 的 6-BA，对猴面包树的侧芽诱导和增殖效果均不佳，仅当 6-BA 浓度为 2.0 ~3.0 mg·L^{-1} 时诱导产生了少量侧芽，增殖效果与不添加任何细胞分裂素相比无明显差异。因此，2.0 mg·L^{-1} ZT 对侧芽诱导最佳，增殖倍数明显提高。

表 1 消毒方法对猴面包树种子消毒影响

Table 1 Effect of disinfection method on disinfection of *Adansonia digitata* seed

消毒方法 Disinfection method	污染率 Pollution rate (%)	未污染种子状况 Uncontaminated seed condition
75%酒精 0 min＋0.1% 升汞 0 min 75% alcohol 0 min + 0.1% Mercuric chloride 0 min	100.0±0.0a	— —
75%酒精 1 min＋0.1% 升汞 15 min 75% alcohol 1 min + 0.1% Mercuric chloride 15 min	91.7±2.9ab	无发芽，未变色 No germination, no discoloration
75%酒精 2 min＋0.1% 升汞 15 min 75% alcohol 2 min + 0.1% Mercuric chloride 15 min	76.7±12.6c	少量发芽或变透明变红 Small germination, transparent red
75%酒精 3 min＋0.1% 升汞 15 min 75% alcohol 3 min + 0.1% Mercuric chloride 15 min	21.7±5.8e	较多发芽、变透明变红 More germination, transparent red
75%酒精 4 min＋0.1% 升汞 15min 75% alcohol 4 min + 0.1% Mercuric chloride 15 min	26.7±2.9e	较多发芽、变透明变红 More germination, transparent red
75%酒精 5 min＋0.1% 升汞 15min 75% alcohol 5 min + 0.1% Mercuric chloride 15 min	21.7±7.6e	无发芽,种子发黑 No germination, seeds turn black
75%酒精 3 min＋0.1% 升汞 5 min 75% alcohol 3 min + 0.1% Mercuric chloride 5 min	83.3±7.6bc	少量发芽、变透明变红 Small germination, transparent red
75%酒精 3 min＋0.1% 升汞 10 min 75% alcohol 3 min + 0.1% Mercuric chloride 10 min	41.7±2.9d	少量发芽、变透明变红 Small germination, transparent red
75%酒精 3 min＋0.1% 升汞 20min 75% alcohol 3 min + 0.1% Mercuric chloride 20 min	18.3±5.8e	无发芽,种子发黑 No germination, seeds turn black

注：同列中不同小写字母表示处理组合间显著差异（$P<0.05$），下同。

Note: Different lowercase letters in the same column represent significant difference（$P<0.05$）, the same blow.

表 2 酸蚀对猴面包树种子发芽的影响

Table 2 Effects of acid etching on aseptic germination of *Adansonia digitata* seed

编号 Number	时间 Time	萌发率 Germination rate (%)	成活率 Survival rate (%)	发芽势 Germination energy (%)	生长状况 Growth status
1	0 min	1.3±1.5c	66.7a	1.3±1.5c	发芽慢，植株根系正常 Slow germination, plant development and root is normal
2	5 min	3.3±3.1c	66.7a	2.7±3.1c	发芽慢，植株根系正常 Slow germination, plant development and root is normal
3	10 min	3.3±1.2c	100.0a	3.3±1.2c	发芽慢，植株根系正常 Slow germination, plant development and root is normal
4	30 min	6.7±1.2c	100.0a	4.0±0.0c	发芽慢，植株根系正常 Slow germination, plant development and root is normal
5	6 h	33.3±6. b	95.6a	24.3±2.1b	发芽整齐，植株根系正常 Germinate fast, plant development and root is normal
6	12 h	46.0±5.3a	97.7a	27.3±1.6b	发芽整齐，植株根系正常 Germinate fast, plant development and root is normal
7	24 h	49.3±2.3a	55.3a	31.3±4.2a	种胚多破损，植株畸形，生根慢 Multiple embryo damage, plant malformation, slow rooting

表 3 遮光处理对猴面包树种胚无菌萌发的影响

Table 3 Effects of dark treatment on seedlings of *Adansonia digitata* seed

处理编号 Number	时间 Time	萌发率 Germination rate (%)	成活率 Survival rate (%)	发芽势 Germination energy (%)	生长状况 Growth status
1	0 h	46.0±5.3c	97.7a	27.3±1.2b	植株健壮根系发达 Plants are robust and roots are developed
2	24 h	57.3±4.2b	98.2a	44.7±5.0a	植株健壮根系发达 Plants are robust and roots are developed
3	48 h	74.0±2.0a	98.2a	42.7±1.2a	植株健壮根系发达 Plants are robust and roots are developed
4	72 h	72.0±4.0a	97.8a	44.0±3.5a	长势不均匀，根部发育不完全 Uneven growth, incomplete root development

表 4 不同细胞分裂素及浓度对猴面包树增殖的影响

Table 4 Effects of different cytokinin and concentrations on multiplication and growth status of *Adansonia digitata*

分裂素 Mitogen	浓度 Concentration (mg·L^{-1})	增殖系数 Multiplication coefficient	侧芽诱导率 Inductive rate of the lateral buds (%)	生长状况 Growth Status
无 No	0.0	0.0±0.0f	0.0±0.0f	无根，无愈伤，茎杆上部变褐死亡 No roots, no callus, death in the upper part of the stem
ZT	1.0	1.1±0.2d	73.3±2.9b	少量生根，无愈伤，健壮 A small amount of rooting, no callus, robust
	2.0	3.1±0.3a	98.3±2.9a	无根，下基部愈伤，健壮 No roots, lower base callus, robust
	3.0	2.3±0.3b	93.3±2.9a	无根，愈伤较多，健壮 No roots, more callus, strong
	4.0	1.5±0.2c	53.3±2.9c	无根，大量愈伤，茎杆上部变褐死亡

				No roots, more callus, death in the upper part of the stem
	5.0	0.4±0.2e	26.7±5.8d	无根，大量愈伤，茎杆上部变褐死亡 No roots, more callus, death in the upper part of the stem
	6.0	0.1±0.1f	5.0±8.7ef	无根，大量死亡，愈伤褐化 No roots, a lot of death, callus browning
6-BA	1.0	0.0±0.0f	0.0±0.0f	无根，无愈伤，茎杆上部死亡 No roots, no callus, death in the upper part of the stem
	2.0	0.1±0.1f	6.7±11.5ef	无根，无愈伤，茎杆上部死亡 No roots, no callus, death in the upper part of the stem
	3.0	0.1±0.1f	11.7±10.4e	无根，无愈伤，大量茎杆上部死亡 No roots, no callus, death in the upper part of the stem
	4.0	0.0±0.0f	0.0±0.0f	无根，大量愈伤，茎杆上部死亡 No roots, more callus, death in the upper part of the stem
	5.0	0.0±0.0f	0.0±0.0f	无根，大量愈伤，茎杆上部死亡 No roots, more callus, death in the upper part of the stem
	6.0	0.0±0.0f	0.0±0.0f	无根，大量愈伤，茎杆上部死亡 No roots, more callus, death in the upper part of the stem

表 5 不同生长素及其浓度对猴面包树生根的影响

Table 5 Effects of different auxins and concentrations on multiplication and growth status of *Adansonia digitata*

生长素 Auxin	浓度 Concentration (mg·L^{-1})	生根率 Rate of rooting (%)	平均根数 Average number of roots (bar)	平均根长 Average root length (cm)	生长状况 Growth Status
无 No	0	0.0±0.0e	0.0±0.0e	0.0±0.0e	大量落叶，无根，部分死亡 A lot of fallen leaves, no roots, some deaths
IBA	1.0	12.1±5.2de	0.3±0.3cde	1.2±0.4de	根较粗易断，泡沫化，少量落叶 The root is thicker and more fragile, a small amount of leaves
	2.0	43.3±17.0abc	1.7±0.6ab	5.0±2.0bc	根泡沫化易断，少量黄叶 The root is thicker and more fragile, a small amount of yellow leaves
	3.0	46.7±8.0abc	2.0±0.7a	5.2±0.4bc	叶片较绿，根多且细，极少量泡沫根 The leaves are greener, the roots are more and thinner, and a small amount of foam roots
	4.0	48.5±21.9ab	0.8±0.5cde	6.3±3.0ab	叶片翠绿，主根较长，根细无泡沫化 The leaves are greener, the main root is relatively long, no foam root
	5.0	61.3±10.8a	1.9±0.5a	8.9±2.1a	植株健壮，根多且壮，无泡沫化 Plants are robust, roots are strong and strong, no foaming
	6.0	34.2±8.0abcd	0.7±0.4cde	2.6±0.7cde	植株健壮，根系较少，无泡沫化 Plants are robust, with few roots and no foaming
NAA	2.0	12.1±21de	0.3±0.5de	0.8±1.3de	少量黄叶，根细且短 A small amount of yellow leaves, the roots are thin and short
	3.0	18.5±17.0cde	0.4±0.3cde	1.1±1.1de	下基部膨大，无愈伤，根系泡沫化 The lower base is swollen, no damage, foaming
	4.0	35.7±18.6abcd	1.2±0.9abc	2.4±0.5cde	少量落叶，有愈伤，根系泡沫化 A small of fallen leaves, damage, foaming
	5.0	20. 5±9.9bcde	0.3±0.1de	0.7±0.7de	黄叶，有愈伤，根系泡沫化

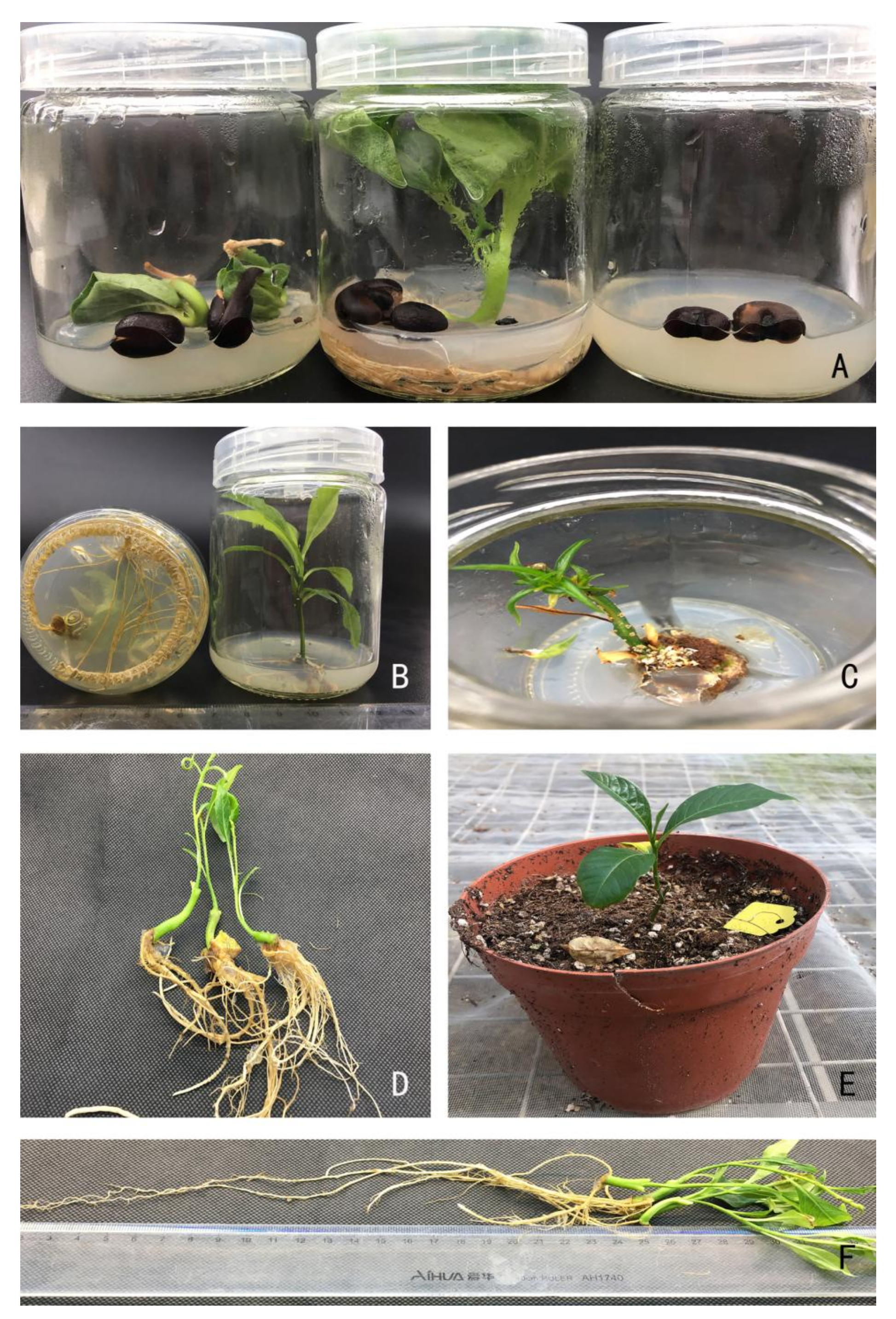
					Yellow leaves, callus, root foaming
IAA	2.0	25.0±30.0bcde	0.3±0.4cde	2.2±2.7cde	少量黄叶，无愈伤，根系少且微泛白 A small amount of yellow leaves, no damage, less roots and whitening
	3.0	37.8±3.90abcd	1.1±0.1bcd	3.7±1.4bcd	少量黄叶，主根较粗，无泡沫化现象 A small amount of yellow leaves, the main root is thick, no foaming
	4.0	30.0±8.7bcd	0.6±0.3cde	3.5±2.2bcd	少量黄叶，根系泛白，根系泡沫化 a small amount of yellow leaves, white roots, foaming of roots
	5.0	26.48±20.0bcde	0.8±0.6cde	2.7±1.0cde	少量落叶，根系泛白，根系泡沫化 A small of fallen leaves, white roots, foaming of roots

2.5 生长素种类及浓度对猴面包树生根的影响

以 WPM 为基本培养基，添加 IBA、NAA 或 IAA 对猴面包树进行生根培养，结果发现（表 5），随着生长素浓度的增加生根率、平均根数及根长都呈现先增加后降低的趋势。其中，IBA 5.0 mg·L^{-1} 时，猴面包树生根率（61.3%）、平均根数（1.9 条）及平均根长（8.9 cm）均最高，明显高于其它处理，且植株翠绿健壮（图 1：B）。添加 NAA 或 IAA 的培养基，其生根率、平均生根条数、平均根长均不如添加 IBA 的培养基，当 NAA 浓度为 3.0~5.0 mg·L^{-1}、根系粗大、大量泡沫化、易折断、叶片发黄脱落；IAA 浓度为 4.0~5.0 mg·L^{-1} 时，出现黄叶落叶现象，根系泛白泡沫化。泡沫根现象影响后期移栽成活率（图 1：D）。添加适量的 IBA 则可降低泡沫根，猴面包树根细长，不易折断（图 1：F）。对照组无生根现象，并随着培养时间的增长出现死亡现象。因此，适合猴面包树组培苗生根的培养基为 WPM+ IBA 5.0 mg·L^{-1}。

2.6 猴面包树组培苗的移栽

猴面包树炼苗移栽 30 d 后统计成活率，移栽成活率 60.0%以上。移栽 60 d 左右形成新的根系，叶片翠绿（图 1：E）。



A. 猴面包树种子发芽（左为发育不完全情况，中间为正常发育，右未发芽时情况）；**B**. 猴面包树在生根壮苗培养基上培养 60 d 后，根系形成；**C**. 腋芽在增殖培养基上培养 60 d 后形成的的芽丛；**D**. 猴面包树泡沫根；**E**. 猴面包树炼苗移栽 60 d 后生长情况；**F**. 猴面包树正常根系。

A. Germination of baobab seed (left is incomplete development, normal development in the middle, when the right is not germinated); **B**. Root formation after culturing the baobab tree on rooting medium for 60 days; **C**. Axillary bud formed after 60 days of culture on proliferation medium; **D**. Foamed roots of baobab trees; **E**. Growth after 60 days of transplanting of baobabs; **F**. Normal roots of baobabs.

图 1 猴面包树的离体快速繁殖

Fig 1 Rapid propagation technology of *Adansonia digitata*

3 讨论与结论

猴面包树原产非洲，中国仅少量引种，取材困难，以猴面包树种子作为外植体进行组织培养具有不受时间地点限制，容易保存等优点（黄帆等 2018）。猴面包树种子种皮坚硬，发芽率低（Jensen et al., 2011），必须经过预处理才能大量的获得有活性的无菌材料。因此筛选出适宜的种子预处理方法和消毒方法，是建立猴面包树无菌体系首要解决的问题。在同类研究中，陈学福等用浓硫酸酸蚀 40 min 对洋槐种子发芽效果最佳（陈学福和李爽，2017）；张宁等用浓硫酸对荆条种子处理 10 min，可有效破除种子硬壳，提高种子发芽率（张宁和刘震，2015）；杨晓玲用 95%的浓硫酸处理猴面包树带果肉的种子 6～12 h，播种 20 d 后发芽率可达 86%～90%（杨晓玲，2013）；Dovie（2003）将去掉果肉的猴面包树种子用浓硫酸处理 15 min，其发芽率分别达 98%和 86%。本研究以去掉果肉的猴面包树当年生种子作为外植体，采用 95%的浓硫酸处理猴面包树种子 12 h，清洗干净后用 75%酒精 3 min，0.1%升汞溶 15 min 进行消毒，接种到 WPM 培养基中，遮光处理 48 h 启动培养，发芽率为 74.0%。本试验中没有经过遮光处理的发芽率只有 46%，远低于杨晓玲(2013)和 Dovie (2003)所报道的结果，可能与猴面包树的品种、产地环境、种子的发育情况和采摘时间不同所致（Singh et al., 2010），相关结果有待于进一步研究验证。

不同植物种子的萌发对光照有不同的要求。李艳等（2009）曾报道遮光 30%跳舞草种子的发芽势和发芽率最高，其发芽天数最短。我们研究发现猴面包树种子发芽时进行适当遮光处理，发芽率从 44.0%增加到 74.0%，增幅明显，从实验结果推断，猴面包树可能是嫌光性种子，生产实践中播种时可适当深播，促进其发芽。这为猴面包树种子发芽机理研究和产业化发展提供了一定的参考价值和探索方向。

在增殖过程中，6-BA 和 IBA 的组合是较常见的组合。程广有等在木棉的组织培养和快速繁殖中添加 2.0 mg·L^{-1} 6-BA 及 0.1 mg·L^{-1} 的 IBA 进行继代增殖，增殖系数能达到 3.0 ~ 5.0 左右（程广有等 2004）。N'Doye et al. (2012)以 MS 作为基础培养基添加 0.5 mg·L^{-1} BAP 对猴面包树进行增殖培养，增殖倍数 2.31，平均增殖芽数为 1.25。本研究在猴面包树继代增殖培养中发现，以 WPM 为基础培养基，添加 6-BA 和 IBA 对侧芽诱导基本没有效果；而添加 ZT 和 IBA 对侧芽诱导效果较好，当 ZT 浓度为为 2.0 mg·L^{-1} 时，增殖系数达到最大 3.1 ，侧芽诱导率为 98.3%，但 IBA 与 ZT 的合理浓度还有待进一步实验，猴面包树增殖系数还有提高的空间。

猴面包树组培苗生根比较困难，容易产生泡沫根。Singh et al. (2010)提出生长素的存在是猴面包树生根的必要条件，添加 5 mg·L^{-1} NAA 猴面包树生根率达 75%。Rolli et al. (2016)提出添加适量的 IBA 能有效的提高猴面包树组培苗生根率，最大生根率为 45%。本研究发现，添加较高浓度的 NAA 和 IAA 猴面包树根系均粗大，大量泡沫化易折断，且生根率远低于 Singh et al. (2010)的试验结果；而添加 IBA 的则无明显泡沫根现象，当 IBA 浓度为 5.0 mg·L^{-1} 时生根率为 61.3%，平均根数 1.9 条，平均根长为 8.9 cm，生根率则远优于 Rolli et al. (2016)的结果，这种差异可能由基础培养基的成分和实验的材料不同引起的。

在猴面包树组培生根苗炼苗移栽方面，目前还未见有相应的文献报道，我们在移栽的过程中发现，组培苗的根系如果泡沫化易断则很难成活，即使成活，恢复也非常慢，长势弱。移栽成活率跟组培苗质量和管理方式息息相关。本研究移栽 30 d 最终成活率为 60.0%，离产业化生产要求还有较大距离。如何解决泡沫根问题，完善猴面包树组织快繁技术体系，从而提高移栽成活率也有待进一步探究。本研究通过 2 a 多的大量反复试验初步建立了猴面包树组织快繁技术体系获得了长势较好的无菌苗，并成功移栽至大田，为猴面包树的快速繁殖及工厂化育苗提供试验基础。

参考文献：

CHEN XF, LI SH, 2017. Effect of temperature and sulfuric acid treatment on germination of *Acacia* seeds [J]. Anhui Agric Syst, 23(17): 100-10. [陈学福，李爽，2017.温度及浓硫酸处理对洋槐种子发芽的影响[J]. 安徽农学通报, 23(17)：100-102.]

CHEN GY, HAN YL, LI Y, et al., 2004. Tissue culture and rapid propagation of *Bombax malabaricum* [J]. J Plant Physiol, 40 (3): 337. [程广有，韩雅莉，李瑛，等，2004. 木棉的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯，40(3)：337.]

DAVID T. TENBO, MELVIN JH, et al., 2017. Effect of thermal treatment and storage on bioactive compounds, organic acids and antioxidant activity of baobab fruit (*Adansonia digitata*) pulp from Malawi [J]. J Food Compos Anal, 58 (2017): 40–51.

DOVIE BDK, 2003. Rural economy and livelihoods from the non-timber forest products trade. Compromising sustainability in Southern Africa [J]. Int J Sustain Dev World Ecol, (10): 247-262.

HUANG F, LI J, LIU L et al., 2018. Tissue culture and regeneration of *Bromus inermis* [J]. J Plant Physiol, 54 (5): 783-789. [黄帆，李俊，刘磊，等，2018. 无芒雀麦组织培养再生体系的建立[J]. 植物生理学报，54(5): 783-789.]

JENSEN JS, BAYALA J, SANOU H, et al., 2011. A research approach supporting domestication of baobab (*Adansonia digitata* L.) in West Africa [J]. New For, 3(41): 317- 335.

KOMANE BM, VERMAAK I, KMATOU GPP, et al., 2016. Beauty in baobab: A pilot study of the safety and effificacy of *Adansonia digitata* L. seed oil [J]. Rev Brasil Farmacog, 27 (2017): 1-8.

LIU Y, LI HY, CHEN GM, et al., 2018. Advances in research of *Adansonia digitata* L. [J]. Chin J Trop Agric , 38(8): 50-55. [刘扬，李宏杨，陈冠铭，等，2018. 猴面包树研究进展[J]. 热带农业科学，38(8)：50-55.]

LI Y, LI SF, WANG Q, et al., 2009. Effect of light temperature and GA3on the germination of *Codariocalyx motorius* seeds [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 29(12): 2558-2563. [李艳，李思锋，王庆，等，2009. 光温和赤霉素对跳舞草种子萌发的影响[J]. 西北植物学报, 29(12)：2558-2563.]

N'DOYE AL, Sambe MAN, MANE OSY, 2012. Propagation of African baobab (*Adansonia digitata* L., Bombacaceae, Malvaceae) Germplasm through *in vitro* cloning [J]. Adv Environ Biol, 6(10): 2749 -2757.

NWOKOCHA LM, WILLIAMS PA, 2016. Rheological properties of a polysaccharide isolated from *Adansonia digitata* L. leaves [J]. Plant Biosyst, 58 (2016): 29-34.

RAHUL J, JAIN MK, SINGH SP, et al., 2015. *Adansonia digitata* L. (baobab): A review of traditional information and taxonomic description [J]. Asian Pac J Trop Biomed, 5(1): 79-84.

ROLLIE, BRUNONI F, BRUNI R, 2016. An optimized method for *in vitro* propagation of African baobab (*Adansonia digitata* L.) using two-node segments [J]. Plant Biosyst, 150(04): 750–756.

SUN LI, LIU L, PEI YL, et al., 2018. Ultrasonic-assisted extraction of polysaccharide from baobab fruit and study on its antioxidant activity [J]. Food Res Dev, 39(8): 40-47. [孙连立，刘露，裴运林，等，2018. 猴面包树果多糖超声辅助提取及其抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发，39(8)：40-47.]

SINGH S, RAI S, KHAN S, 2010. *In vitro* seed germination of *Adansonia digitata* L.: An endangered medicinal tree [J]. Nano Biotechnol Univ, 1(2): 107 – 112.

WEI J, DUAN QF, ZHANG YP, et al., 2011. Introduction and cultivation of baobab (*Adansonia

digitata L.) and its utilization prospects [J]. Chin J Trop Agric, 31(7): 16- 21. [魏静，段琼芬，张燕平，等， 2011. 猴面包树引种栽培及其应用前景[J]. 热带农业科学，31(7)：16-21.]

YANG XL, 2013. A strange foreign tree species: *Adansonia digitata* L. [J].Trop Agric Sci & Technol, 36(2): 41-42. [杨晓玲，2013. 一个奇特的热带树种:猴面包树[J]. 热带农业科技，36(2): 41-42.]

ZHANG N, LIU ZH, 2015. Effect of low temperature in winter on the germination of seeds in *Camellia japonica* college of forestry [J]. Henan Sci, 33(1): 44-48. [张宁，刘震, 2015. 冬季低温对耐冬山茶种子萌发的影响[J]. 河南科学, 33(1)：44-48.]